

Our Ref.: OP-C4022-PC-US

Prior Art Reference:

Japanese Patent Laid-Open Publication No. 2002-148247A

Laid-Open Date: May 22, 2002

Patent Application No. 2000-341432

Filing Date: November 9, 2000

Applicant: ID No. 598091860
NAGOYA INDUSTRIAL SCIENCE RESEARCH INSTITUTE
Nagoya-shi, Japan

Inventors: Yoshio OKAMOTO, Nagoya-shi, Japan
Eiji YASHIMA, Nishi-kamo-gun, Aichi-ken, Japan
Tomoyo YAMAMOTO, Kasugai-shi, Aichi-ken, Japan

Title: SEPARATING AGENT FOR OPTICAL ISOMER AND
ITS MANUFACTURING METHOD

PARTIAL TRANSLATION OF THE DESCRIPTION:
Paragraphs [0031] - [0035]

[0031] c) Synthesis of cellulose phenylcarbamate derivative having methacrylate residue at a part of position 6 (CMDMPC)

14mL of dry pyridine were added to 2.0g of cellulose 2,3-O-bis(3,5-dimethylphenylcarbamate) and the whole was heated with stirring at 90°C to dissolve such a polysaccharide derivative. Then, 0.31g of 2-methacryloyloxyethyl isocyanate was added to the mixture, and the whole was heated with stirring to confirm that added isocyanate was completely reacted and consumed. Subsequently, 1.90g of the objective cellulose 2,3-O-bis(3,5-dimethylphenylcarbamate)-6-O-(2-methacryloyloxyethylcarbamate)/(3,5-dimethylphenylcarbamate) (CMDMPC) were yielded by adding 0.71g of 3,5-dimethylphenyl isocyanate and by heating the mixture with stirring for 12 hours to perform carbamation of remaining hydroxyl groups at position 6. Also, ¹H-NMR showed that the percentage of vinyl groups introduced at position 6 was 27%.

[0032] d) Introduction of methacrylate residue onto silica gel surface

At first, by using 50g of silica gel (pore diameter: 1,000Å,

particle size: 7 μ m), aminopropylation of the surface of silica gel was performed by reacting 20mL of 3-aminopropyltriethoxysilane with the hydroxyl groups on the surface of silica gel as is conventionally done.

[0033]

Then, by using 3.5g of the obtained aminopropylated silica gel, an amino group in an aminopropyl group on the silica gel surface was reacted with an NCO group of 2-methacryloyloxyethyl isocyanate by: using 10mL of dry toluene as a reaction medium; adding 0.187g of 2-methacryloyloxyethyl isocyanate to the medium; and heating the mixture with reflux at 90 to 100°C for 5 hours, to thereby yield 3.50g of unsaturated silica gel at which a vinyl group as a polymerizable unsaturated group, specifically a 2-methacryloyloxyethyl group, was introduced.

[0034] e) Fixation of a cellulose derivative

By using various kinds of polysaccharide derivatives which were respectively synthesized previously, a 25 weight% polysaccharide derivative was carried on a silica gel, into which methacrylate residue was introduced, or methacrylate residue was not introduced, as described above, by the ordinary technique of preparing a carrying type stationary phase. Thereafter, the silica gel which carries thereon the polysaccharide was subjected to vacuum treatment thereby to remove oxygen. Then, under the nitrogen atmosphere, α , α' -azobisisobutyronitrile (AIBN) in the number of mols corresponding to 1/50 vinyl group of polymerization system was dissolved into distilled hexane, and further, a required amount of polymerizable unsaturated monomer (styrene, t-butylacrylate and the like) was added and dissolved into the solution. Then, this solution was dropped little by little and was shaken well so that the solution prevails the entire silica gel uniformly. This procedure was repeated until the silica gel became in the state of diluted paste by the solvent. Thereafter, the radical polymerization was performed at 60°C for 20 hours.

[0035]

Subsequently, the radical polymerization was stopped in a similar manner as that of the ordinary radical polymerization. The obtained

silica gel was washed with 20mL THF (tetrahydrofuran) and collected by centrifugal separation. The collected silica gel was further washed with 20mL THF, and was dried, while the THF solution which contributed to such washing was collected. Then, an amount of cellulose derivative, which was eluded from the silica gel, was obtained from a difference between the amount of the collected THF and an amount of the evaporated residue of the collected THF, and its fixation ratio was calculated [= (the amount of cellulose derivative used - the amount of eluded cellulose derivative) x 100/the amount of cellulose derivative used].

/ / / / / / / LAST ITEM / / / / / /

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-148247

(P2002-148247A)

(43) 公開日 平成14年5月22日 (2002.5.22)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テームト^{*} (参考)

G 0 1 N 30/48

G 0 1 N 30/48

W 4 C 0 9 0

K 4 G 0 6 6

S 4 H 0 0 8

T

B 0 1 J 20/22

B 0 1 J 20/22

D

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-341432 (P2000-341432)

(22) 出願日 平成12年11月9日 (2000.11.9)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成12年5月12日
社団法人高分子学会発行の「高分子学会予稿集 49巻
第4号」に発表

(71) 出願人 598091860

財団法人名古屋産業科学研究所

愛知県名古屋市中区栄二丁目10番19号

(72) 発明者 岡本 佳男

愛知県名古屋市東区矢田町2-66-222

(72) 発明者 八島 栄次

愛知県西加茂郡三好町三好丘5-1-11、
3-1103

(72) 発明者 山本 智代

愛知県春日井市神屋町654-265

(74) 代理人 100078190

弁理士 中島 三千雄 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光学異性体用分離剤及びその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 多糖誘導体の優れた光学分割能を確保しつつ、そのような多糖誘導体を担体に担持せしめてなる光学異性体用分離剤の耐溶媒性能を向上せしめてHPLCの汎用性を高める。またそのような分離剤の充填されるカラムの耐久性を向上せしめること。更には、そのような優れた特性を有する光学異性体用分離剤を有利に製造し得る手法の提供。

【解決手段】 シリカゲル等の多孔性の担体に対して、セルロース等をベースとする多糖誘導体を担持せしめ、目的とする光学異性体用分離剤を製造するに際して、該多糖誘導体に重合性不飽和基を導入して、重合性多糖誘導体と為す一方、該重合性多糖誘導体及び前記担体と共に、該重合性多糖誘導体とは異なる他の重合性不飽和モノマーを共存せしめた状態下において、ラジカル共重合を行ない、該重合性多糖誘導体を前記担体に固定せしめるようにした。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 シリカゲル等の多孔性の担体に対して、セルロース等をベースとする多糖誘導体を担持せしめて、目的とする光学異性体用分離剤を製造するに際して、該多糖誘導体に重合性不飽和基を導入して、重合性多糖誘導体と為す一方、該重合性多糖誘導体及び前記担体と共に、該重合性多糖誘導体とは異なる他の重合性不飽和モノマーを共存せしめた状態下において、ラジカル共重合を行ない、該重合性多糖誘導体を前記担体に固定せしめるようにしたことを特徴とする光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 2】 前記担体が重合性不飽和基を有しており、該担体に対して前記重合性多糖誘導体と前記他の重合性不飽和モノマーとが共重合せしめられて、相互に化学結合せしめられている請求項 1 に記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 3】 前記多糖誘導体のヒドロキシ基の一部がカルバメート基に変換されていると共に、該カルバメート基に対して前記重合性不飽和基が結合せしめられている請求項 1 又は請求項 2 に記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 4】 前記重合性多糖誘導体が、セルロースの 6 位のヒドロキシ基の一部に対して前記重合性不飽和基を導入することによって構成されている請求項 1 乃至請求項 3 の何れかに記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 5】 前記他の重合性不飽和モノマーが、不飽和炭化水素モノマー、アクリル酸エステル、メタクリル酸エステル、アクリル酸誘導体、及びメタクリル酸誘導体からなる群より選ばれた少なくとも 1 種のモノマーである請求項 1 乃至請求項 4 の何れかに記載の光学異性体用分離剤の製造方法。

【請求項 6】 セルロース等をベースとする多糖誘導体に重合性不飽和基を導入してなる重合性多糖誘導体と、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーとをラジカル共重合せしめ、生成する共重合体を、シリカゲル等の多孔性の担体上に固定してなることを特徴とする光学異性体用分離剤。

【請求項 7】 重合性不飽和基が導入されたシリカゲル等の多孔性の担体に対して、セルロース等をベースとする多糖誘導体に重合性不飽和基を導入してなる重合性多糖誘導体と、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーとが、ラジカル共重合せしめられ、それら担体と重合性多糖誘導体と他の重合性不飽和モノマーとが化学的に結合されていることを特徴とする光学異性体用分離剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【技術分野】 本発明は、光学異性体用分離剤及びその製造方法に係り、特に、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に好適に用いられる、耐溶媒性に優れた光学異

性体用分離剤と、それを有利に製造する方法に関するものである。

【0002】

【背景技術】 従来から、光学異性体を光学分割する手法は、 μ g オーダーの微量分析以外にも、kg オーダーの工業的規模での光学異性体の分取に応用されてきており、また、そのような光学分割のために、多糖類やその誘導体、例えばセルロースやアミロースのエステルまたはカルバメート誘導体の高い光学分割能力を利用して、それをシリカゲル等の多孔性の担体上に物理的に吸着、担持せしめてなる分離剤が好適に用いられ得ることは、よく知られているところである。

【0003】 しかしながら、そのような分離剤は、所定の多糖誘導体をシリカゲル (担体) に物理的な吸着によって担持させたものであるところから、それを HPLC の分離剤として使用する場合にあっては、移動相として多糖誘導体を溶解せしめる溶媒は使用することが出来ず、シリカゲル (担体) に対する安定性 (耐溶媒性) において、問題を内在するものであった。要するに、多糖誘導体を溶解せしめる溶媒は、最早、移動相等としては使用することが出来ず、分離条件の選択に制約があったのであり、また試料を溶解する溶媒にも制限があり、移動相として使用可能な溶媒に対して、溶解性の小さな試料では、HPLC による分離作用にも劣るものであったのである。

【0004】 このため、そのような多糖誘導体の担体に対する安定性を向上せしめるべく、各種の手法が、これまでに提案されてきており、例えば、特開平 4-202141 号公報においては、多糖類の水酸基部位にエステル結合若しくはウレタン結合を介してビニル基を導入した多糖類誘導体を、ビニル基を導入した多孔性担体に対して直接に共重合せしめて、光学分割剤を構成するようにした技術が明らかにされているが、そこでは、それらの間における共重合による化学的結合の形成が効果的に為され得ず、そのために、多糖類誘導体の担体に対する固定化率が低く、多糖類誘導体の損失の問題に加えて、光学分割作用にも劣るようになる等という問題があった。

【0005】 また、本発明者らにあっては、先に、特公平 7-30122 号公報において、イソシアネート誘導体を介して多糖誘導体をシリカゲルに化学的に結合させ、以て両者の安定性を確保する技術を明らかにし、更に、特開平 11-171800 号公報においては、セルロース誘導体を担持したシリカゲル上でスチレン、ジビニルベンゼンをラジカル共重合させて網掛けして固定化するようにすることにより、その安定性の向上を図る技術を提案しているが、これらの手法にあっては、特別のイソシアネート誘導体を準備する必要があったり、また多工程の製造工程が必要である等という問題が内在する他、多糖誘導体の固定化率が未だ充分でなく、それ故

に、多糖誘導体を溶解するような溶媒を移動相として用いた光学分割手法の採用は、望むべくもなかったのである。

【0006】

【解決課題】ここにおいて、本発明は、かかる事情を背景にして為されたものであって、その解決課題とするところは、多糖誘導体の優れた光学分割能を確保しつつ、そのような多糖誘導体を担体に担持せしめてなる光学異性体用分離剤の耐溶媒性能を向上せしめ、以てHPLCの汎用性を高めることにあり、また、そのような分離剤の充填されるカラムの耐久性を向上せしめることにもあり、更には、そのような優れた特性を有する光学異性体用分離剤を有利に製造し得る手法を提供することをも、その課題とするものである。

【0007】

【解決手段】そして、本発明にあっては、かくの如き課題を解決するために、シリカゲル等の多孔性の担体に対して、セルロース等をベースとする多糖誘導体を担持せしめて、目的とする光学異性体用分離剤を製造するに際して、該多糖誘導体に重合性不飽和基を導入して、重合性多糖誘導体と為す一方、該重合性多糖誘導体及び前記担体と共に、該重合性多糖誘導体とは異なる他の重合性不飽和モノマーを共存せしめた状態下において、ラジカル共重合を行ない、該重合性多糖誘導体を前記担体に固定せしめるようにしたことを特徴とする光学異性体用分離剤の製造方法を、その要旨とするものである。

【0008】また、このような製造手法にて得られた光学異性体用分離剤は、セルロース等をベースとする多糖誘導体に重合性不飽和基を導入してなる重合性多糖誘導体と、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーとをラジカル共重合せしめ、生成する共重合体を、シリカゲル等の多孔性の担体上に固定してなることを特徴としている。

【0009】このような本発明に従う光学異性体用分離剤の製造方法及びそれによって得られる光学異性体用分離剤にあっては、重合性多糖誘導体が、その有効な光学分割能を維持しつつ、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーとの間において、効果的にラジカル共重合せしめられ、以てそのような重合性多糖誘導体が、それ単独で重合せしめられる場合とは異なり、他の重合性不飽和モノマーを介して重合体を構成して（共重合体となつて）、所定の担体（粒子）表面を覆うようになることから、かかる重合性多糖誘導体の固定化率を効果的に向上せしめ得ることとなったのであり、これにより、得られる光学異性体用分離剤の安定性乃至は耐溶媒性が効果的に向上せしめられ得て、カラムの耐久性の向上を有利に図り得るのである。

【0010】特に、そのような光学異性体用分離剤の安定性（耐溶媒性能）の向上は、本発明に従う製造方法の望ましい一つの態様に従って、前記担体に重合性不飽和

基を導入し、該担体に対して重合性多糖誘導体とそれとは異なる他の重合性不飽和モノマーとを共重合せしめて、それら三成分を相互に化学結合せしめてなる形態の光学異性体用分離剤とすることにより、より一層有利に高めることが出来るのである。要するに、所定の重合性多糖誘導体が、他の重合性不飽和モノマーとの共重合体の形態において、担体に導入された重合性不飽和基に対して、更に、共重合することにより、それら重合性多糖誘導体と他の重合性不飽和モノマーと担体とが効果的に化学結合することとなるのであり、以てそのような重合性多糖誘導体の固定化率が有利に高められ得ることとなるのであって、これにより、分離剤の安定性の向上が達成され得るのである。

【0011】そして、このようにして得られる光学異性体用分離剤は、重合性不飽和基が導入されたシリカゲル等の多孔性の担体に対して、セルロース等をベースとする多糖誘導体に重合性不飽和基を導入してなる重合性多糖誘導体と、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーとが、ラジカル共重合せしめられ、それら担体と重合性多糖誘導体と他の重合性不飽和モノマーとが化学的に結合されていることを特徴としている。

【0012】なお、上記した本発明の望ましい態様の一つによれば、前記多糖誘導体のヒドロキシ基の一部が、カルバメート基に変換されていると共に、該カルバメート基に対して、所定の重合性不飽和基が結合せしめられているものが、前記重合性多糖誘導体として有利に用いられるのであり、更に、本発明の他の望ましい態様によれば、前記重合性多糖誘導体は、セルロースの6位のヒドロキシ基の一部に対して、前記重合性不飽和基を導入することによって構成されていることが望ましく、これによって、セルロース本来の光学分割能を有利に維持せしめ得るのである。

【0013】また、本発明において、重合性多糖誘導体の担体に対する効率よい固定化に際して重要な役割を為す、該重合性多糖誘導体とは異なる他の重合性不飽和モノマーとしては、有利には、不飽和炭化水素モノマー、アクリル酸エステル、メタクリル酸エステル、アクリル酸誘導体、及びメタクリル酸誘導体からなる群より選ばれた少なくとも1種のモノマーが用いられ、このような重合性不飽和モノマーとの共重合によって、前記した本発明の課題がよりよく解決され得ることとなるのである。

【0014】

【発明の実施の形態】ところで、かくの如き本発明において、多孔性の担体としては、公知のものの中から適宜に選択され、例えばポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリアクリレート等の高分子物質からなる多孔質有機担体や、シリカ、アルミナ、マグネシア、ガラス、カオリン、酸化チタン、珪酸塩、ヒドロキシアパタイト等の多孔質無機担体を挙げることが出来るが、その中で

も、シリカゲルが、有利に用いられることとなる。また、担体の粒径は、一般に、 $0.1\mu\text{m}\sim 10\text{mm}$ 程度、好ましくは $1\mu\text{m}\sim 300\mu\text{m}$ 程度であり、平均孔径は、 $1\text{nm}\sim 100\mu\text{m}$ 、好ましくは $5\text{nm}\sim 5\mu\text{m}$ 程度である。なお、担体としてシリカゲルを用いる場合において、その表面は、残存シラノール基の影響を排除するために、表面処理が施されていることが望ましいが、勿論、そのような表面処理が施されていないものであっても、使用可能であることは言うまでもないところである。

【0015】そして、本発明にあっては、そのような多孔性担体が、そのまま用いられる他、重合性多糖誘導体をより一層効果的に固定化せしめるべく、そのような多孔性担体にも、ビニル基で代表される如き重合性不飽和基（エチレン性不飽和結合）が導入せしめられる。なお、この多孔性担体に重合性不飽和基を導入するに際しては、公知の各種の手法が採用され、共重合機能に影響を与えない程度において、複数の重合性不飽和基や各種結合位置に重合性不飽和基を有する不飽和化合物を用いて、そのような不飽和化合物を、所定の多孔性担体に対して、好ましくはシリカゲル等の化学修飾可能な担体に対して反応せしめて、化学的に結合することにより、目的とする重合性不飽和基が導入せしめられることとなる。

【0016】なお、かかる担体に対する重合性不飽和基の更に具体的な導入方式については、特開平4-202141号公報に指摘されているところであり、本発明においても、そこで指摘されている具体的な方式を適宜に選択して、目的とする重合性不飽和基の導入された担体が形成されることとなるが、特に、本発明において、シリカゲル表面上への重合性不飽和基の導入に際しては、シリカゲル表面のヒドロキシ基（シラノール基）に対して、長鎖の有機基を介して、重合性不飽和基を導入せしめることが望ましく、例えば、アミノアルキルシランを用いて、シリカゲル表面のアミノアルキル化を行なった後、そのアミノ基に対して、（メタ）アクリロイロキシアルキルイソシアナートを反応せしめて、重合性不飽和基としてアクリル基乃至はメタクリル基を長鎖の有機基を介して導入することにより、反応性（共重合性）のよい重合性担体を得ることが出来る。

【0017】一方、本発明において、重合性多糖誘導体のベースとなる多糖としては、合成多糖、天然多糖及び天然物変性多糖の何れも問わず、光学活性であれば如何なるものも用いられ得るが、好ましくは、結合様式の規則性の高いものが、好適に用いられることとなる。具体的には、セルロースが代表的なものであるが、その他に、デンプン、デキストラン、アミロース、アミロペクチン、ブスツラン、カードラン、グルカン、ガラクトマンナン、イヌリン、レバン、キシラン、キトサン、キチン、プルラン、アガロース、アルギン酸等があ

り、またアミロースを含有する澱粉も用いることが可能である。それらの中でも、高純度の多糖として容易に入手することの出来るセルロース、アミロース、キシラン、キトサン、キチン、マンナン、イヌリン、カードラン等が好ましく、特にセルロース、アミロースが有利に用いられることとなる。また、これらの多糖の数平均重合度（1分子中に含まれるピラロース或いはフラロース環の平均数）は、5以上、好ましくは10以上であり、その上限は、取り扱いの容易さ等の点から、一般に500以下であることが望ましい。

【0018】ところで、本発明で用いられる多糖誘導体は、上記のような多糖のヒドロキシ基（水酸基）の一部に、該ヒドロキシ基と反応し得る官能基を有する化合物を、従来から公知の手法に従って、エステル結合、ウレタン結合或いはエーテル結合等させることにより、誘導体化して得られる化合物であって、そのような誘導体化によって、優れた光学分割能が発揮せしめられ得るようになっていものである。ここで、ヒドロキシ基と反応し得る官能基を有する化合物としては、イソシアナ酸誘導体、カルボン酸、エステル、酸ハライド、酸アミド、ハロゲン化物、エポキシ化合物、アルデヒド、アルコール或いはその他脱離基を有する化合物であれば、如何なるものでもよく、これらの脂肪族、脂環族、芳香族、ヘテロ芳香族化合物を用いることが出来るが、それらの化合物の中でも、特に、ハロゲン原子又は炭素数1～3のアルキル基で置換されたフェニルイソシアナート化合物が有利に用いられる。そして、本発明にあっては、多糖誘導体として、1単糖当たり0.1個以上のエステル結合又はウレタン結合を有する多糖のエステル又はカルバメート誘導体が有利に用いられるのである。

【0019】そして、本発明において用いられる重合性多糖誘導体は、上述せる如き多糖誘導体の形成に際して、ビニル基の如き重合性不飽和基を有する上記と同様な化合物を用いて、前記した多糖の化学修飾を行なうことにより、製造され得るものであって、具体的には、多糖のヒドロキシ基と反応してエステル結合若しくはウレタン結合を生じる公知のビニル化合物が適宜に選択され、例えば塩化アクリロイル、塩化メタクリロイル、塩化ビニルベンゾイル等の不飽和酸ハロゲン化物類や、ビニルフェニルイソシアナート等の不飽和イソシアナート類を挙げることが出来、更にそのような分子中に一つのビニル基（重合性不飽和基）を有する化合物ばかりでなく、複数のビニル基を有する化合物をも、必要に応じて用いることが出来る。

【0020】また、そのようなビニル基の如き重合性不飽和基を有する化合物にて多糖を化学修飾するに際して、多糖構成単位への重合性不飽和基の導入数については、そのような重合性不飽和基を有する化合物にて多糖の構成単位に存在する全てのヒドロキシ基（水酸基）、例えばセルロースの場合においては、3つのヒドロキシ

10

20

30

40

50

基を完全に化学修飾する必要はなく、部分的な化学修飾で充分であり、またセルロース（多糖）の分子全体において、部分的に重合性不飽和基が導入されていることで充分である。

【0021】そして、本発明にあっては、特に有利には、前記した多糖誘導体のヒドロキシ基の一部がカルバメート（ $-\text{OCONH}-\text{R}$ ）基に変換され、そしてそのような置換基におけるRが所定の重合性不飽和基とされてなる形態が、有利に採用されることとなるのであり、更に有利には、前記した重合性多糖誘導体は、セルロースの6位のヒドロキシ基の一部に対して、所定の重合性不飽和基を導入することによって構成されている。このような構造の重合性多糖誘導体の採用によって、優れた光学分割能を確保しつつ、その多孔性担体への固定を効果的に行ない、光学異性体用分離剤の耐溶媒特性乃至は安定性を有利に高め得るのである。

【0022】また、本発明にあっては、かくの如き重合性多糖誘導体と共に、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーを用い、それら重合性成分をラジカル共重合せしめることにより生成する共重合体にて、担体（粒子）表面を覆うようにして、かかる重合性多糖誘導体の固定化率を高め、以て耐溶剤特性を向上せしめるようにしたものであるが、ここで用いられる他の重合性不飽和モノマーとしては、エチレン性二重結合を有する公知の各種の低分子量のモノマーを用いることが出来、例えばスチレン、ジビニルベンゼン、イソプレン等の不飽和炭化水素モノマー； t -ブチルアクリレート等のアクリル酸エステル類； t -ブチルメタクリレート等のメタクリル酸エステル類；アクリル酸アミド等のアクリル酸誘導体類；メタクリル酸アミド等のメタクリル酸誘導体類、更に珪素を含有する不飽和化合物等を挙げることが出来、それらの1種または2種以上を組み合わせ、用いられることとなる。

【0023】さらに、このような重合性不飽和モノマーは、その共重合の対象となる重合性多糖誘導体の有する有効な光学分割能に悪影響をもたらさない程度において、適宜の割合において用いられることとなるが、一般に、重合性多糖誘導体の100重量部に対して、1重量部～50重量部程度の割合において用いられることとなる。尤も、そのような重合性不飽和モノマーの使用量は、多孔性の担体に重合性不飽和基が導入されている場合と、されていない場合とにおいても異なり、前者の場合においては、より少ない使用量において、充分な固定化率を得ることが可能である。

【0024】ところで、本発明に従って、所定の重合性多糖誘導体を、それとは異なる他の重合性不飽和モノマー、或いはそのような重合性不飽和モノマー及び重合性不飽和基の導入された多孔性担体と、ラジカル共重合せしめるに際しては、一般的な懸濁重合等の重合手法に従って、公知の通常の重合条件を採用して実施されること

となるが、有利には、多孔性担体に対して重合性多糖誘導体を含浸乃至は塗布して、担持せしめた後、所定の重合性不飽和モノマーをラジカル開始剤と共に含有する溶液を接触させて、該溶液を担体表面に充分に付着せしめた後、重合を進行させることにより、目的とする重合性多糖誘導体と重合性不飽和モノマーとの共重合、或いはそれら重合性多糖誘導体と重合性不飽和モノマーと、更には重合性不飽和基の導入された担体との共重合が行なわれ、以て重合性多糖誘導体の担体に対する有効な固定化が実現され得ることとなるのである。

【0025】要するに、このようなラジカル共重合操作によって、多孔性担体の表面には、重合性多糖誘導体と重合性不飽和モノマーとの共重合体が効果的に形成せしめられ得て、そのような共重合体にて覆われる（被覆される）ようになるのであり、またそれら重合性多糖誘導体と重合性不飽和モノマーとが、担体の重合性不飽和基と共重合して、それら三成分が化学的に結合してなる構造の重合体構造として存在するようになることから、かかる重合性多糖誘導体の安定化乃至は耐溶媒特性が効果的に高められ得て、HPLCに際してのカラム耐久性が著しく向上せしめられ得ることとなったのであり、また、重合性多糖誘導体が、それとは異なる、分子量の小さな他の重合性不飽和モノマーを介して重合（共重合）せしめられることによって、そのような重合性多糖誘導体の固定化が有効に行なわれ得、更には、そのような重合性多糖誘導体が、重合性不飽和モノマーを介して、多孔性担体の重合性不飽和基に対して、有利に重合せしめられ得て、その固定化率を効果的に高め得たのである。

【0026】なお、このようにして、本発明に従って得られた光学異性体用分離剤は、HPLCにのみ適用されるものでは決してなく、他の液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー等のクロマトグラフィー用の分離剤として有用であるが、特に液体クロマトグラフィー用の分離剤として用いるのが、その有利な特徴を最大限に発揮し得るところから、好ましいのである。そして、そのような本発明に従う分離剤を、前記のようなクロマトグラフィー用の分離剤として用いることにより、各種の光学異性体を効率よく分離することが出来ることとなったのである。

【0027】

【実施例】以下に、本発明を更に具体的に明らかにするために、本発明の代表的な実施例を挙げるが、本発明が、そのような実施例の記載によって、何等の制約をも受けるものでないことは言うまでもないところである。また、本発明には、以下の実施例の他にも、更には上記の具体的記述以外にも、本発明の趣旨を逸脱しない限りにおいて、当業者の知識に基づいて、種々なる変更、修正、改良等を加え得るものであることが理解されるべきである。

【0028】a) セルロース2, 3-O-ビス(3, 5

10

20

30

40

50

ージメチルフェニルカルバメート)の合成

まず、セルロース(メルク社製マイクロクリスタリンアビセル)6.02gと塩化リチウム4.06gとを乾燥させた後、乾燥N,N-ジメチルアセトアミド60mLを加え、80℃で12時間、加熱攪拌することにより、セルロースを膨潤させた。次いで、トリフェニルメチルクロライド20.6g及び乾燥ピリジン120mLを加え、再び80℃で12時間、加熱攪拌することにより、セルロースの6位の保護を行なった後、3,5-ジメチルフェニルイソシアナート21.9gを加え、そのまま12時間、加熱攪拌することにより、セルロースの2位及び3位のヒドロキシ基のカルバメート化を行なった。

【0029】その後、かかる得られたセルロースのカルバメート化物を回収し、メタノールで洗浄した後、1%HC1-メタノール800mL中で攪拌することにより、脱保護を行ない、6位のヒドロキシ基を再生することにより、目的とするセルロース2,3-0-ビス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)の17.5gを得た。

【0030】b) 6位の一部にビニル基を有するセルロースフェニルカルバメート誘導体(CVDMPC)の合成

先に合成したセルロース2,3-0-ビス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)の4.46gに乾燥ピリジン90mLを加え、90℃で加熱攪拌することにより、かかる多糖誘導体を溶解した後、4-ビニルフェニルイソシアナート0.85gを加え、続いて、3,5-ジメチルフェニルイソシアナート2.01gを加えて、12時間、加熱攪拌することにより、6位のヒドロキシ基が3,5-ジメチルフェニルカルバメート基及び4-ビニルフェニルカルバメート基にて置換された、セルロース2,3-0-ビス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)-6-O-(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)/(4-ビニルフェニルカルバメート)(CVDMPC)2.97gを得た。なお、この生成物を、¹H-NMRにて分析した結果、6位に導入されたビニル基の割合は、27.6%であった。

【0031】c) 6位の一部にメタクリレート残基を有するセルロースフェニルカルバメート誘導体(CMDMPC)の合成

先に合成したセルロース2,3-0-ビス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)2.00gに乾燥ピリジン14mLを加え、90℃で加熱攪拌して、かかる多糖誘導体を溶解させた後、2-メタクリロイロキシエチルイソシアナート0.31gを加え、加熱攪拌し、その加えたイソシアナートが完全に反応して、消費されたことを確認した後、3,5-ジメチルフェニルイソシアナート0.71gを加え、12時間、加熱攪拌することにより、残った6位のヒドロキシ基のカルバメート化を行ない、目的とするセルロース2,3-0-ビス(3,5-

ジメチルフェニルカルバメート)-6-O-(2-メタクリロイロキシエチルカルバメート)/(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)(CMDMPC)1.90gを得た。また、¹H-NMRにより、その6位に導入されたビニル基の割合が27%であることを認めた。

【0032】d) シリカゲル表面上へのメタクリレート残基の導入

まず、シリカゲル(孔径:1000Å、粒子サイズ:7μm)50gを用い、その表面のヒドロキシ基に対して、3-アミノプロピルトリエトキシシラン20mLを、従来と同様にして反応せしめて、その表面のアミノプロピル化を行なった。

【0033】次いで、かかる得られたアミノプロピル化シリカゲルの3.5gを用い、乾燥トルエン10mLを反応媒体として、これに、2-メタクリロイロキシエチルイソシアナート0.187gを加え、90~100℃で5時間、加熱還流させることにより、シリカゲル表面のアミノプロピル基におけるアミノ基と2-メタクリロイロキシエチルイソシアナートのNCO基とを反応せしめて、重合性不飽和基としてビニル基、具体的には2-メタクリロイロキシエチル基の導入された不飽和シリカゲルの3.50gを得た。

【0034】e) セルロース誘導体の固定化

先に合成した各種の多糖誘導体を用い、それぞれ、通常の担持型固定相を調製する手法により、前述の如くメタクリレート残基を導入した、或いは導入していないシリカゲル上に、25重量%担持させた後、真空処理して酸素を除去し、次いで、窒素雰囲気下において、重合系のビニル基の1/50に相当するモル数のα,α'-アゾビスイソブチロニトリル(AIBN)を蒸留ヘキサンに溶解し、更に所要量の重合性不飽和モノマー(スチレン、t-ブチルアクリレート等)を添加、溶解せしめた溶液を少しづつ滴下して、シリカゲル全体に均一に行き渡るように、よく振り、これを繰り返し、シリカゲルが溶媒で緩いペースト状になるようにした後、60℃で20時間、ラジカル重合を行なった。

【0035】その後、通常のラジカル重合と同様にして重合を停止し、得られたシリカゲルをTHF(テトラヒドロフラン)20mLで洗い、遠心分離により回収してから、更に、THF20mLで洗い、その洗浄されたシリカゲルを乾燥に付す一方、かかる洗浄に寄与したTHF溶液を回収し、その蒸発残差から、シリカゲルより溶け出したセルロース誘導体量を求め、その固定化率[=(セルロース誘導体使用量-溶出セルロース誘導体量)×100/セルロース誘導体の使用量]を算出した。

【0036】f) セルロース誘導体固定化シリカゲルのカラム充填・光学分割能評価

先のe)において調製されたセルロース誘導体固定化シリカゲルを用い、通常の担持型固定相と同様の方法によって、粒径分別とカラム充填を行ない、光学分割能評価

10

20

30

40

50

用カラム（内径：2mm×長さ：250mm）を作製した。

【0037】次いで、このようにして作製された各種の分離カラムを用い、液体クロマトグラフィー法により、図1及び図2に示される各種のラセミ体化合物の光学分割を行なった。分析条件は、移動相として、H（ヘキサン）／I（イソプロパノール）＝90／10、またはH／C（クロロホルム）／I＝90／10／1を用い、流速：0.1mL/min、温度：25℃、検出：254nmで行なった。

【0038】先ず、下記表1には、6位の一部の芳香環上にビニル基を有するセルロースフェニルカルバメート誘導体：CVDMP C（ビニル基6位の30％）の光学分割能を、物理的にセルロース誘導体を吸着せしめた*

セルロース誘導体	担持型CVDMP C*	担持型OD**
移動相	H/I＝90／10	H/I＝90／10
評価特性	分離係数： α	分離係数： α
ラセミ体A	1.34	1.32
ラセミ体B	1.51	1.68
ラセミ体C	1.35	1.58
ラセミ体D	ca. 1	1.34
ラセミ体E	1.19	1.15
ラセミ体F	2.27	2.57
ラセミ体G	1.13	ca. 1
ラセミ体H	1.28	1.41
ラセミ体I	1.67	2.17
ラセミ体J	2.16	1.83

*：カラムサイズ…4.6mm内径×250mm長さ

**：市販カラム

【0040】また、かかるCVDMP Cに対して、それとは異なる他の重合性不飽和モノマーとしてのスチレン（St）を、10重量％の割合で用いて、ラジカル共重合を行なうことにより、生成する共重合体をシリカゲル表面に固定せしめてなる分離剤について、その評価を行ない、その結果を、担持型CVDMP Cの場合と比べて、下記表2に示した。そこでは、CVDMP Cに共重合させる重合性不飽和モノマーとして、10重量％のスチレンを用いただけで、CVDMP Cの固定化を略完全に行なうことが出来ることが示されている。また、移動

* けの担持型固定相とした形態において、セルローストリス（3，5－ジメチルフェニルカルバメート）（OD）との間において比較した結果が示されている。そこでは、CVDMP Cを用いた場合に、ODと比較して、個々のラセミ体においては、分離係数： α の上昇、下降が観察され、特に、ベンゾイン及びコバルト（III）トリス（アセチルアセトネート）では、ODで分割出来なかったものが、CVDMP Cでは分割出来、或いはその逆の挙動が認められたが、全体として、CVDMP Cは、ODと略同等の光学分割能を有しているものと、考えられるのである。

【0039】

【表1】

相（溶離液）にクロロホルムが含まれるような条件で光学分割を試みても、全く問題なく、そのような溶離液を使用することが出来、更に幾つかのラセミ体で、 α 値の上昇が認められた。

【0041】これに対して、重合系にスチレンを存在させず、CVDMP Cのみの重合を行ない、生じた重合体のシリカゲル表面上への固定化を行なったところ、固定化率は50％に過ぎないものであった。

【0042】

【表2】

固定相	共重合型 10wt% St/CVDMPC*		担持型 CVDMPC*
固定化率	99%		—
理論段数	5695	4914	6239
移動相	H/I=90/10	H/C/I=90/10/1	H/I=90/10
評価特性	α	α	α
ラセミ体A	1.68	1.52	1.34
ラセミ体B	ca. 1	1.05	1.51
ラセミ体C	1.18	1.18	1.35
ラセミ体D	1.12	1.18	ca. 1
ラセミ体E	1.32	1.32	1.19
ラセミ体F	1.96	2.23	2.27
ラセミ体G	1.32	ca. 1	1.13
ラセミ体H	1.13	1.14	1.28
ラセミ体I	ca. 1	—	1.67
ラセミ体J	3.20	1.56	2.16

*：カラムサイズ…4.6mm内径×250mm長さ

【0043】さらに、CVDMPCに共重合せしめる重合性不飽和モノマー（スチレン）の量を種々異ならしめて得られた分離剤についての評価を行ない、その結果を、下記表3に示す。この表3の結果から明らかなように、スチレンの共重合割合をある程度減らしても、CV

DMPCの固定化率を十分に確保することが出来、また分離係数： α も充分なものであると認められた。

【0044】

【表3】

固定相	共重合型 St/CVDMPC		
St 割合	50 wt%	30 wt%	5 wt%
固定化率	99%	>99%	86%
理論段数	5479*	5336*	1018
移動相	H/I=90/10		
評価特性	α	α	α
ラセミ体A	1.53	1.60	1.45
ラセミ体B	1.23	1.17	1.33
ラセミ体C	1.14	1.16	1.34
ラセミ体D	ca. 1	ca. 1	ca. 1
ラセミ体E	1.31	1.31	1.22
ラセミ体F	1.73	1.81	2.18
ラセミ体G	ca. 1	ca. 1	1.17
ラセミ体H	ca. 1	1.08	1.22
ラセミ体I	ca. 1	ca. 1	1.42
ラセミ体J	2.63	2.76	2.57

*：カラムサイズ…4.6 mm内径×250 mm長さ

【0045】次に、重合性不飽和モノマーとしてのスチレンに代えて、*t*-ブチルアクリレート (*t*BuA) 又は *t*-ブチルメタクリレート (*t*BuMA) を用い、それらと CVDMPC とを共重合せしめることにより得られた分離剤についての評価を行ない、その結果を、下記表4に示した。この表4から明らかなように、スチレンに代えて、*t*BuA 又は *t*BuMA を用いた場合にあっても、CVDMPC の固定化率を約90%とすることが出来、その得られた固定相についても、溶離液にクロロ

ホルムが含まれるような条件での使用が可能であることが認められた。また、ここで得られた固定相では、ラセミ体によっては、スチレンを用いた場合よりも α 値が上昇しており、同重量のスチレンを用いて固定化を行なった場合には光学分割出来なかったトランスースチルベンオキシドでは、光学分割が達成されることを認めた。

【0046】

【表4】

固定相	共重合型 10wt% tBuA/CVDMPC		共重合型 10wt% tBuMA/CVDMPC	
固定化率	90%		90%	
理論段数	1898	1811	2416	974
移動相	H/I-90/10	H/C/I -90/10/1	H/I-90/10	H/C/I -90/10/1
評価特性	α	α	α	α
ラセミ体A	1.57	1.51	1.53	1.79
ラセミ体B	1.29	1.64	1.29	1.74
ラセミ体C	1.29	1.32	1.28	1.32
ラセミ体D	ca. 1	ca. 1	ca. 1	1.12
ラセミ体E	1.25	1.30	1.25	1.29
ラセミ体F	2.16	2.92	2.12	2.85
ラセミ体G	1.21	ca. 1	1.20	ca. 1
ラセミ体H	1.21	1.20	1.20	1.23
ラセミ体I	1.45	—	1.42	—
ラセミ体J	2.84	1.43	2.84	1.49

【0047】さらに、シリカゲル上にメタクリレート残基を導入したことによる光学分割能への影響を調べ、その結果を、下記表5に示した。なお、その合成スキームからも理解されるように、本実施例において調製されたメタクリレート残基を有するシリカゲルには、極性の高い尿素結合が含まれており、この尿素結合が、光学分割に影響を及ぼす可能性があることから、その影響を調べるために、通常用いられる、表面をアミノプロピル化し

たシリカゲルにODを担持した固定相と、先に調製されたメタクリレート残基を有するシリカゲルにODを担持した固定相とを、それぞれ、調製し、それらの光学分割能の比較を行なった結果、後者の方が、光学分割能が高いことが分かった。

【0048】

【表5】

シリカ表面	メタクリレート	アミノプロピル*
移動相	H/I = 90/10	
評価特性	α	α
ラセミ体A	1.28	1.32
ラセミ体B	2.15	1.68
ラセミ体C	1.66	1.58
ラセミ体D	1.25	1.34
ラセミ体E	1.12	1.15
ラセミ体F	3.19	2.57
ラセミ体G	ca. 1	ca. 1
ラセミ体H	1.49	1.41
ラセミ体I	2.81	2.17
ラセミ体J	3.73	1.83

*：市販カラム

【0049】また、重合性不飽和モノマーとしてスチレンを用い、上記のメタクリレート残基を導入したシリカゲルに対して、CVDMP Cの固定化を行なったところ、下記表6に示される如く、シリカゲル上にビニル基が存在しない場合に比べ、CVDMP Cに対して、5重量%という、より少ない使用量において、効率よくCVDMP Cを固定化することが出来ることが明らかとなった。また、ここで得られた固定相についても、溶離液にクロロホルムが含まれるような条件での使用が可能であ

ることも明らかとなった。更に、スチレンに代えて、*t*-ブチルメタクリレートを用いて、CVDMP Cをメタクリレート残基を導入したシリカゲル上での固定化を行なった結果、同様に、少ない重合性不飽和モノマーの使用量において、CVDMP Cの固定化を行なうことが出来、加えて、クロロホルムが含まれる溶離液を用いた分離操作も可能であることが明らかとなった。

【0050】

【表6】

固定相	共重合型 5wt% St/CVDMPC		共重合型 5wt% tBuMA/CVDMPC	
固定化率	97%		97%	
理論段数	2372	2146	1405	1731
移動相	H/I-90/10	H/C/I -90/10/1	H/I-90/10	H/C/I -90/10/1
評価特性	α	α	α	α
ラセミ体A	1.73	1.73	1.75	1.71
ラセミ体B	1.00	1.21	1.00	1.25
ラセミ体C	1.19	1.22	1.19	1.23
ラセミ体D	1.09	1.17	1.08	1.17
ラセミ体E	1.32	1.38	1.30	1.39
ラセミ体F	1.90	2.53	1.87	2.49
ラセミ体G	1.23	ca. 1	1.22	ca. 1
ラセミ体H	1.14	1.18	1.14	1.17
ラセミ体I	1.12	—	1.13	—
ラセミ体J	4.27	2.25	4.36	2.29

【0051】先に調製した6位の一部のみにメタクリレート残基を導入したセルロースフェニルカルバメート誘導体 (CMDMPC) を用い、それとCVDMPCについて、担持型の分離剤を調製し、その特性を評価した結果、下記の表7に示される如く、CMDMPCは、CV

DMPCと略同等の光学分割能を有していることを認めた。

【0052】

【表7】

固定相	担持型CMDMPC	担持型CVDMP C*
移動相	H/I=90/10	
評価特性	α	α
ラセミ体A	1.70	1.34
ラセミ体B	1.33	1.51
ラセミ体C	1.35	1.35
ラセミ体D	ca. 1	ca. 1
ラセミ体E	1.30	1.19
ラセミ体F	2.30	2.27
ラセミ体G	1.16	1.13
ラセミ体H	1.20	1.28
ラセミ体I	ca. 1	1.67
ラセミ体J	2.82	2.16

*：カラムサイズ…4.6mm内径×250mm長さ

【0053】そして、上記で評価されたCMDMPCを用い、それに対して10重量%のスチレンを重合性不飽和モノマーとして用いて、シリカゲル上に固定化を試みた結果、下記表8に示される如く、CVDMP Cの場合と同様に、略完全にCMDMPCを固定化することが出来た。このことから、セルロース誘導体の光学分割能を損なうことなく、より安価に且つ簡便に固定化を行ない

得ることが理解され、またここで得られた固定相についても、溶離液にクロロホルムが含まれるような条件での使用が可能であり、一部のラセミ体では、 α 値の上昇も認められた。

【0054】

【表8】

固定相	共重合型 10wt% St/CMDMPC	
固定化率	>99%	
理論段数	1849	849
移動相	H/I-90/10	H/C/I-90/10/1
評価特性	α	α
ラセミ体A	1.90	1.68
ラセミ体B	ca. 1	ca. 1
ラセミ体C	1.22	1.20
ラセミ体D	1.07	1.20
ラセミ体E	1.37	1.36
ラセミ体F	1.95	2.50
ラセミ体G	1.16	ca. 1
ラセミ体H	1.10	1.12
ラセミ体I	ca. 1	—
ラセミ体J	4.13	1.80

【0055】

【発明の効果】以上の説明から明らかなように、本発明によれば、多糖誘導体の光学分割能を有利に確保しつつ、そのような多糖誘導体の多孔性担体に対する固定化率を著しく高め、固定相としての安定性乃至は耐溶媒性能を向上して、カラムの耐久性を有利に向上せしめ得ることとなったのであり、また、従来では使用が困難であ

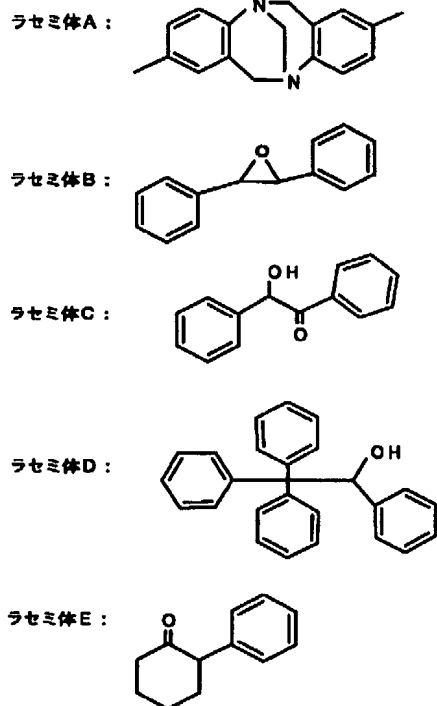
った移動相の使用も可能ならしめ、以て光学異性体の分離操作をより有利に行ない得ることとなったのである。

【図面の簡単な説明】

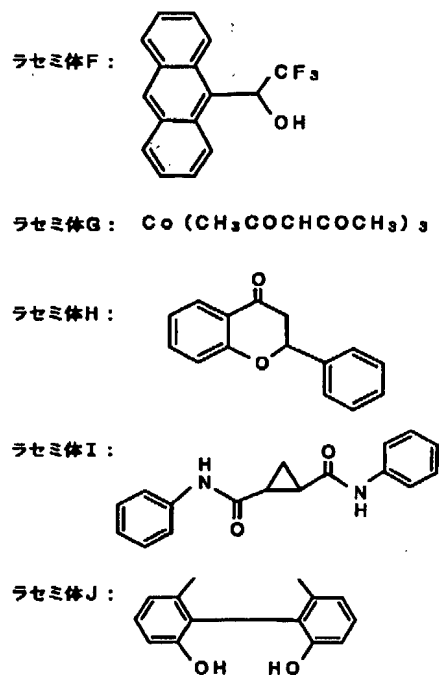
【図1】実施例において光学分割用試料として用いたラセミ体A～Eの構造を示す図である。

【図2】実施例において光学分割用試料として用いたラセミ体F～Jの構造を示す図である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード' (参考)
B 0 1 J 20/30		B 0 1 J 20/30	
C 0 7 B 57/00	3 1 0	C 0 7 B 57/00	3 1 0
	3 4 0		3 4 0
	3 4 3		3 4 3
	3 5 0		3 5 0
	3 7 0		3 7 0
C 0 7 C 29/74		C 0 7 C 29/74	
33/24		33/24	
33/46		33/46	
37/68		37/68	
39/15		39/15	
45/78		45/78	
49/657		49/657	
49/83		49/83	Z
49/92		49/92	
231/20		231/20	
233/58		233/58	
// C 0 8 B 37/00		C 0 8 B 37/00	K
C 0 7 M 7:00		C 0 7 M 7:00	

Fターム(参考) 4C090 AA05 AA07 AA10 BA34 BB53
BB62 BB73 BB99 DA40
4G066 AA22C AC01B AC02B BA09
BA20 BA23 BA28 CA19 EA01
FA07
4H006 AA05 AC83 AD17 BJ20 BJ50
BV64 FC52 FE11 FE13 FE71
FE74